

⑩ 日本国特許庁 (JP)
⑪ 公開特許公報 (A)

⑩ 特許出願公開
昭55-110556

⑫ Int. Cl.³
A 61 L 17/00
C 09 J 3/18

識別記号

庁内整理番号
6617-4C
7016-4J

⑬ 公開 昭和55年(1980)8月26日
発明の数 3
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ 組織接着剤およびその製造方法

⑮ 特 願 昭55-13782
⑯ 出 願 昭55(1980)2月8日
優先権主張 ⑰1979年2月15日⑱オーストリア(AT)⑲A1189/79
⑳ 発 明 者 オットー・シュヴァルツ
オーストリー国ウィーン・チエ
ルテスガツセ5
㉑ 発 明 者 イェンドラ・リンナウ
オーストリー国ウィーン・ラヴ
エンデルヴェーク24
㉒ 発 明 者 フランツ・レーブリツヒ

⑳ 発 明 者 オーストリー国ウィーン・ゼツ
クスシンメルガツセ5
トマス・ゼーリツヒ
オーストリー国ウィーン・ギム
ナジウムシュトラッセ5/7
㉑ 出 願 人 イムノ・アクチエンゲゼルシャ
フト・フュア・ヒエーミツシュ
・メディツィーニツシエ・プロ
ドウクテ
オーストリー国ウィーン・イン
ドウストリーシュトラッセ72
㉒ 代 理 人 弁理士 伊藤武久

明 細 書

1. 発明の名称 組織接着剤およびその製造方法

2. 特許請求の範囲

- (1) フィブリノーゲンおよび第XII因子を含有する人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に於て、
- (a) 少なくとも33重量部のフィブリノーゲンを含有すること、
- (b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合 (1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす) が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性化剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチネンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000のKIEの量で含有していること、
- (e) 溶剤がリオフィール化されていること、

を組合せて有することを特徴とする、上記組織接着剤。

(2) 追加的にグリシンを含有する特許請求の範囲第1項記載の組織接着剤。

(3) 追加的にグルコーゼまたはサツカローゼを含有する特許請求の範囲第1項または第2項記載の組織接着剤。

(4) 1gのフィブリノーゲン当り0.2~200 IEのヘパリンを含有する特許請求の範囲第1~3項のいずれか1つに記載の組織接着剤。

(5) リオフィール化した溶剤を溶解した後、定置放置 (incubation) によつて3~5分後、 α -ヘパリン- α -ヘパリンが完全に架橋しそして2時間の定置放置によつてフィブリノーゲン- α -ヘパリンが少なくとも35%架橋する (SDS-ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法で測定) 特許請求の範囲第1~4項のいずれか1つに記載の組織接着剤。

(6) プラスマ氷点降物から、くえん膜ナトリウム、塩化ナトリウム、グリシン、グルコー

- 2 -
BEST AVAILABLE COPY

せおよびプラスミノゲン-活性化剤、抑制剤またはプラスミン-抑制剤およびヘパリンを含む緩衝溶液にて1回または複数回処理することにより、冷間溶解性プラスマ蛋白を除き、そしてその精製された沈殿物を溶解し、人間のアルブミンを添加し、そしてその溶液をリオフィール化することを特徴とする、

- (a) 少なくとも33重量%のフィブリノーゲンを含むこと、
- (b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合(1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす)が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性化剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000のKIEの量で含有していること、

- 3 -

のKIEの量で含有していること、

- (e) 調剤がリオフィール化されていること、を組合せて有することを特徴とする、上記組織接着剤を、人間または動物の組織または器官部分の不融合接合、創傷封じおよび止血並びに創傷治療の促進に使用する方法。
- (f) 接合すべき組織に組織接着剤を適用する以前に、トロンビンと塩化カルシウムとの混合物を該接着剤に添加するか組織上に塗布する等、創傷の創出及び創傷の治癒の方法。

5. 発明の詳細な説明

本発明はフィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に関する。

久しい以前から、出血の止血の爲めには創傷を閉じるために血液凝固物質を使用することは公知である。最初のこの種の提起によつてフィブリン-タンポンあるいはフィブリン-薄板が使用された。第二次世界大戦に血液による組織接着剤が提案された。

(e) 調剤がリオフィール化されていること、を組合せて有し且つ、フィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤をプラスマ氷点沈降物から製造する方法。

- (7) フィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に於て、

- (a) 少なくとも33重量%のフィブリノーゲンを含むこと、
- (b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合(1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす)が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性化剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000

- 4 -

接近、H. マトラス (Matras) 等によつて「グイネル・メデイツニクシエン・グオヘンシュリフト (Wiener Medizinischen Wochenschrift)」、(1972)、第517頁に、動物実験での不融合下の維管束間神経移植の爲め、フィブリノーゲンと第XII因子とをベースとする組織接着剤が開示されている。

別の研究はスピングラー (Spängler) 等による「グイネル・クリニクシエン・グオヘンシュリフト (Wiener Klinischen Wochenschrift)」、(1973)、第1~7頁。この場合も、動物実験にて、氷点沈降物およびトロンビンとしてのフィブリノーゲンによつて組織接着を行ない得ることが提示された。

これら公知の調剤は尚満足し得ないことが判つている。何故ならば、これは組織接着剤に対して出される以下の要求をなを充分に満足していないからである。

- (a) 接着あるいは創傷封じの高度の良因並びに硬度と且つ持続性のある止血、即ち、創傷-あるいは組織接着への接着剤の良好な接着性、並び

- 6 -

BEST AVAILABLE COPY

に溶解剤の高い内部の強度、

- (b) 体内での溶解の調節可能な持続性、
- (c) 創傷治療に於ては溶解剤を完全に吸収し得ること、
- (d) 創傷治療で要求される性質。

このことは、部分的には、止血に必要とされる各凝固因子が公知の凝固剤に於ては互に最適な関係で存在していないことに起因し、そして溶解域に於けるフィブリン溶解活性が不十分にしか抑制されていないことも起因している。従々、酵素の作用によつて組織溶解の早期溶解が生ずる。

本発明は、これらの欠点や困難を回避することを目的とし、そして人間や動物の根源のリオフィール化された組織溶解剤であつて、上記の他の前提条件を満足し、そしてリオフィール化された状態——これは長時間の持続性および改善された溶解性あるいは貯蔵性の為に要求される——で存在する該組織溶解剤を製造することを課題としている。

それによつて、本発明は以下の構成要件の組合

- 7 -

サツカーゼを含有していてもよい。これらの成分も尚ほ溶解性を助成する。

組織溶解剤は更にヘパリンを、1gのフィブリンノゲン当り0.2~200 IE 含有していてもよい。これによつて安定化効果が達成される。

本発明に従う組織溶解剤は、ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) - ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法に従つて測定できる特徴ある炭素質特性を有している。この試験は、組織溶解剤と、1ml 当り $40 \mu \text{Mol}$ の CaCl_2 、および15 NIH-単位 [米国民衛生協会の単位 (US National Institute of the Health-Einheiten)] のトロンビンを含む同じ容量の溶液とを混合した後に、該混合物を37°Cのもとで定置放置するようにして実施する。凝固後は、反応を停止しそして蛋白中に含まれる二硫化物橋の還元の開裂を尿素、ドアンル硫酸ナトリウムおよび β -メルカプト-エタノールより成る混合物を加えることによつて行なつた後に、ゲル電気泳動によつて測定する。3~5分後にフィブリン-I-鎖が完全に溶解し、そして

- 9 -

せにある；

- (a) 少なくとも33重量%のフィブリンノゲンを含有すること、
- (b) 第XI因子とフィブリンノゲンとの割合 (1gのフィブリンノゲン当りの第XI因子の単位数で表わす) が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリンノゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを、1gのフィブリンノゲン当り250~25,000のカリクレイン-不活性剤-単位 (KIE) の量で含有していること、
- (e) 凝固剤がリオフィール化されていること。

有利な実施形態によれば、組織溶解剤が追加的にグリシンを含有しており、それによつてリオフィール化された生成物の再溶解性が改善される。

更に組織溶解剤は、追加的にグルコゼまたは

- 8 -

2時間後にはフィブリン- α -鎖が少なくとも35%以上分解することが、本発明の組織溶解剤を特徴付けている。

蛋白全体中のフィブリンノゲン、アルブミンおよび冷間不溶性グロブリンは、本発明の組織溶解剤に於ては特定の割合で存在するべきである。即ち、この割合は33~90:5~40:0.2~15である。

本発明は更に、プラスマ氷点沈降物から出発して前述の組織溶解剤を製造するに当り、氷点沈降物から、くえん酸ナトリウム、塩化ナトリウム、グリシン、グルコゼおよびプラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤およびヘパリンを含有する緩衝液にて1回または複数回処理することによつて冷間溶解性プラスマ蛋白を除きそしてその精製された沈降物を溶解し、人間のアルブミンを添加し、そしてその溶液をリオフィール化することを特徴とする、上記組織溶解剤の製造方法も包含している。

-20°Cで凍結する人間または動物の新鮮なプラ

- 10 -

BEST AVAILABLE COPY

スマから氷点沈降物を製造するのが有利である。
0〜2℃に温度を高めれば氷点沈降物が得られ
そして遠心分離によつて分離する。沈降物を、6
〜8.0のpH-値を有する緩衝溶液にて1回または
多数回抽出処理し、そして冷間溶解性プラスマ蛋
白を除く為に0〜4℃にて遠心分離する。緩衝溶
液でのこの処理は、第XII因子とフィブリノーゲ
ンとの所定の割合が達成されるまで行なう。

精製した沈降物を、人間のアルブミン、グリッ
ンおよび場合によつてはグルコーゼまたはサツカ
ローゼ、プラスミノゲン-活性化剤-抑制剤または
プラスミン-抑制剤並びにヘパリンを含有し且つ
6.5〜9.0のpH-値を有する別の緩衝溶液にて解
解し、そして4.0〜9.0の蛋白濃度を希釈する。
この溶液を0.2μmまでの孔の大きさの膜伊過器に
て伊過し、最終的容器中に充てしめてリオフィ
ール化する。

こうして得られたリオフィール化組織緩衝剤は
室温または凍に+4℃で貯蔵できる。即ち、この
ものは、プラスミノゲン-活性化剤-抑制剤または

プラスミン-抑制剤、既にアプロチニンが選択的
に添加されているよい注射剤含有水(Aqua ad
injectabilia)で再組成した後に直ちに使用でき
る。リオフィール化した調剤を溶解する場合、直
ちに使用可能な溶液が1cc当たり少なくとも70mgの
フィブリノーゲンを含有しているよう注進するべ
きである。

本発明に従う組織緩衝剤は広汎な用途を有して
いる。このものは、人間または動物の組織-または
は器血部分の不適合接合、創傷処置および止血並
びに創傷治療の促進に使用できる。

本発明の組織緩衝剤が有効に使用され得る有利
な用途分野は、頭部-、鼻部-、耳部-および顔
面外科、産科、神経外科、形成外科、一般的な外
科、腹部外科、胸部-および血管外科、整形外科、
傷害外科、泌尿器科、眼科および婦人科の分野に
適用することである。

接合すべき組織に本発明の組織緩衝剤を適用す
る以前に、トロンビンと塩化カルシウムとの混合
物を緩衝剤に添加するか組織上に塗布すること

- 11 -

- 12 -

が有利である。

本発明の方法を以下の実施例にて更に詳細に説
明する：

-20℃で氷結した人間の新鮮なプラスマ21Lを
+2℃に加熱する。得られた氷点沈降物(435g)
を+2℃のもとで遠心分離によつて分離し、そし
て1L当たり6.6gのNa₂-くえん酸塩・2H₂O、
3.4gのNaCl、10.0gのグリッソ、13.0gの
グルコーゼ・H₂O、50,000 KIEのアプロチニ
ンおよび200 IEのヘパリンを含有するpH-値
6.5の4.3Lの緩衝溶液にて+2℃のもとで処理
し、そして再度+2℃のもとで遠心分離する。分
離した沈降物を、1L当たり35.0gの人間のアルブ
ミン、20.0gのグリッソ、50,000 KIEのアプ
ロチニンおよび200 IEのヘパリンを含有するpH-
値7.9の別の緩衝溶液中に溶解しそして1cc当り
70mgの蛋白濃度に希釈する。

次でこの溶液を、0.2μmまでの孔の大きさの膜
伊過器にて無菌的に伊過しそしてリオフィール化
する。リオフィール化した生成物を90mg/ccのフ

イブリノーゲン濃度に再組成した後に、即ち使用
可能な組織緩衝剤調剤は架橋試験に於て37℃のも
とで5分後にフィブリン-1の完全な架橋をそし
て2時間後にフィブリン-αの66%の架橋を示し
た。

組織緩衝剤中に含まれる各蛋白、即ちフィブ
リノーゲンとアルブミンと冷間不溶性グロブリンと
の割合は64.0 : 22.3 : 7.7であることが確かめ
られた。ヘパリン含有量は1gのフィブリノーゲ
ン当り4.5IEであつた。アプロチニンは1gのフ
イブリノーゲン当り1133 KIEの濃度で含まれて
いた。第XII因子の含有量は1gのフィブリノー
ゲン当り161単位であつた。リオフィール化され
た調剤中の蛋白全含有量は72.2%であり、リオ
フィール化された調剤中のフィブリノーゲン含有
量は46.2%であつた。

この調剤は以下の様に行なう：第XII因子単位
数の測定を、第XII因子不含のフィブリノーゲン
を基質として使用しそして未知の希釈された飲料
を添加することによつて実現するフィブリン架橋

- 14 -

- 13 -

BEST AVAILABLE COPY

を該試料中に含まれる第 XII 因子の量の目安として使用する標準試験によつて行なう。相応する校正曲線はプールした人間のくえん腹液プラズマを用いて得られる。その際、測定された 1 ml のプラズマ当り 1 単位の第 XII 因子を含有している。蛋白の定量的測定はクジエルダール (Kjeldahl) による方法によつて行なう。

蛋白相互間の測定は同様に SDS- ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法に従つて、しかも (a) 還元されてない組織接着剤試料および (b) β -メルカプトエタノールで還元された該試料にて実施した。

本発明の実施の態様として以下のものがある。

蛋白全体中のフィブリノーゲンとアルミニウムと時間不溶性グロブリンの割合が 33 ~ 90 : 5 ~ 40 : 0.2 ~ 15 であることを特徴とする特許請求の範囲第 1 ~ 5 項のいずれが 1 つに記載の組織接着剤。

代理人 弁護士 伊 藤 武 久 武 藤 久 雄

BEST AVAILABLE COPY